

# 鸭病毒性肝炎高免卵黄抗体的研制<sup>\*</sup>

李建鑫, 吴忆春

(山东省滨州职业学院生物工程系, 滨州 256624)

**摘要:** 用 DVH 弱毒疫苗和 DVH 油乳剂苗免疫健康高产蛋鸡, 可以制备高免卵黄抗体。高免卵黄抗体治疗雏鸭病毒性肝炎疗效的试验表明, 用卵黄抗体治疗 DVH 的疗效取决于卵黄抗体的中和效价及治疗的时间。卵黄抗体的中和效价应达 28.5 以上, 并且在感染 DVH 24 h 以内对雏鸭进行肌肉注射, 免疫效果为最适宜。

**关键词:** 鸡; 鸭病毒性肝炎; 卵黄抗体

中图分类号: S 858.32 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2006)03-0081-03

## Development of High Titer Vitelline Antibody Against Duck Viral Hepatitis

LI Jian-xin, Wu yi-chun

(Biological Engineering Department of Binzhou Vocational College, Binzhou 256624)

**Abstract:** The high titer vitelline antibody against duck viral hepatitis can be prepared by immunizing heavy producing layer using attenuated and oil emulsion vaccine. The results in this research indicated: the experiment of its curative effect to duck viral hepatitis was relation to neutralization antibody titer and the treatment duration. Normally when the antibody titer was over 28.5 and the infected duck was inoculated by intramuscular injection during 24 hours, the immunity effect of the vitelline antibody was most feasible.

**Key words:** layer; duck viral hepatitis; vitelline antibody

鸭病毒性肝炎(Duck Virus Hepatitis)是由鸭病毒性肝炎病毒(DHV)引起的一种高度致死性急性传染病。尤其是 3~20 日龄的雏鸭发病, 临床症状以发病急、死亡快, 死前呈角弓反张姿态和病鸭肝脏肿胀, 表面有出血斑点为病变特征的病毒性传染病<sup>[1]</sup>。我们试用蛋鸡作为免疫源, 制备抗鸭肝炎病毒高免卵黄抗体, 临床试用效果良好, 现将试验结果报告如下。

### 1 鸭病毒性肝炎高免卵黄抗体的制备

#### 1.1 高产蛋鸡的选择

选择健康高产蛋鸡 50 只, 隔离饲养, 加强饲料营养, 同时加喂抗生素预防细菌感染, 观察 1 周, 表现正常时接种疫苗。

#### 1.2 DVH 弱毒疫苗

DVH 弱毒疫苗由黑龙江省兽医卫生防疫站近期生产, -15℃冷冻保存。

#### 1.3 肝组织上清液油剂灭活苗制备

1.3.1 制水相 无菌手术法, 取新鲜且具有 DVH 典型病变的肝脏, 除去胆囊、称重、剪碎, 按 1:3 比例, 用生理盐水稀释捣碎装入瓶中, 加双抗, 置冰箱反复冻融 3 次, 离心, 取上清, 再加入肝组织, 按上述方法处理, 取其上清液(保留 200 mL 冻存备用), 加 0.5%福尔马林(分析纯)混匀, 于 37℃条件下灭活 24 h, 即可达到灭活目的, 再加入 4%吐温-80, 高速搅匀 5 min, 装瓶。

1.3.2 制油相 取 10 号白油和司本以 96:4 混合

\* 收稿日期: 2005-11-23

第一作者简介: 李建鑫(1967-), 男, 副教授, 山东省邹平县人, 在职硕士, 现在山东省滨州职业学院生物工程系工作。E-mail: lijian-sanjin@163.com.  
©1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

加入 2%硬脂酸铝, 高压灭菌。

1.3.3 制油苗 以油相与水相 3 : 1 的比例, 先高速搅匀油相 3 min, 然后逐渐加入水相, 边加边混, 至加完水相后再高速(10 000 r/min)搅拌 3 min, 然后静置 72 h 或 3 000 r/min 离心不分层, 判为合格<sup>[2]</sup>。

1.4 高免卵黄抗体的制备

将 DVH 弱毒苗, 用生理盐水稀释, 每只以 2 倍量饮水接种疫苗, 然后于第 10 d 和 20 d 分别接种上述 DVH 油剂灭活苗 2 mL 和 4 mL。经上述免疫后 10 d, 采鸡血清测定抗 DHV 中和抗体效价, 中和效价在 211 以上者, 收集该鸡产的蛋, 用自来水清洗污物后用 0.05%百毒杀浸泡 3~5 min, 然后用纱布擦干, 再用 75%酒精擦一遍, 晾干。在无菌条件下, 将高免蛋打破, 倒入蛋清分离器中分离蛋清, 把留下的蛋黄倒入消毒好的烧杯中, 置组织捣碎机中用 3 000 r/min 匀浆 1 min, 加等量灭菌生理盐水搅匀后, 加青链霉素各 2 000 U/mL, 分装于灭菌玻璃瓶中, 加塞密封, 贴标签。进行常规安全性和无菌检验后, 置 4~8℃冷藏备用。

2 卵黄抗体效价的测定

采用鸡胚中和试验法测定卵黄抗体 DHV 中和效价, 将收获的卵黄抗体做 2 倍系列稀释, 取 2<sup>6</sup>~2<sup>12</sup> 7 个稀释度的卵黄抗体与等量 DHV 混合, 经 37℃中和 1 h 后, 接种 9 日龄的健康鸡胚, 每个稀释度接种 5 枚, 同时设阴性, 阳性对照, 观察鸡胚病变及死亡情况, 按 Read—Muench 法计算卵黄抗体中

和效价<sup>[3]</sup>。

3 无菌检验和安全试验

3.1 无菌检验

取卵黄抗体接种于普通营养琼脂培养基和厌氧肉汤培养基, 37℃培养箱内培养 48 h, 无细菌生长。

3.2 安全试验

随机抓取 5 日龄雏鸭 10 只, 颈背部皮下注射蛋黄抗体 1~2 mL, 隔离饲养观察 10 d, 其精神、食欲和粪便均无异常。

4 卵黄抗体治疗 DVH 的效果

4.1 同效价卵黄抗体对人工接种 10 万倍 DHV 强毒雏鸭的治疗效果

1 日龄雏鸭随机分成 4 组, 每组 20 只, 每只雏鸭肌肉注射 10 万倍 LD50 的 DHV 强毒, 然后 1~3 组每只雏鸭分别肌肉注射效价为 28.5、29.5 和 210.5 的卵黄抗体, 第 4 组不注射卵黄抗体作为对照, 隔离饲养观察 20 d, 其治疗效果见表 1。

表 1 不同中和效价卵黄抗体对人工接种 DHV 强毒雏鸭的治疗效果

卵黄抗体效价	28.5	29.5	210.5	对照
组别	1	2	3	4
保护数	5/20	2/20	16/20	0/20

4.2 不同效价卵黄抗体治疗 DVH 效果

1 日龄雏鸭随机分成 9 组, 每组 20 只, 每只雏鸭肌肉注射 1 万倍 LD50 的 DHV 强毒, 然后 1~8

表 2 不同效价卵黄抗体治疗雏鸭感染 DHV 的效果

组别	1	2	3	4	5	6	7	8	9
抗体效价	23.5	24.5	25.5	26.5	27.5	28.5	29.5	210.5	
保护数	1/20	1/20	3/20	9/20	15/20	20/20	20/20	20/20	0/20

组每只雏鸭肌肉注射不同效价的卵黄抗体, 第 9 组不注射卵黄抗体作为对照, 隔离饲养观察 20d, 其治疗效果见表 2。从结果可看出, 当卵黄抗体中和效价大于 28.5 时有很好的治疗效果。

4.3 不同免疫途径的效果观察

分别经口服、皮下注射和肌肉注射三种途径免疫, 实验证明口服途径无效, 肌肉注射效果明显优于皮下注射免疫。

表 3 雏鸭感染 DHV 不同时间注射卵黄抗体治疗效果

组别	1	2	3	4	5	6	7	8
治疗时间(h)	8	16	24	28	32	36	40	
保护数	20/20	20/20	20/20	20/20	18/20	10/20	5/20	

4.5 卵黄抗体对同居感染雏鸭的预防和治疗效果

60 只 1 日龄雏鸭逐只编号, 1~20 号雏鸭每只

接种 1 万倍 LD<sub>50</sub> 的 DHV 强毒作为接毒对照组; 21 ~ 40 号雏鸭每只接种 1 mL 效价为 29.5 的抗 DHV 卵黄抗体, 作为卵黄抗体预防对照组; 41 ~ 60 号为不作任何接种的同居感染实验组。60 只鸭混群饲养, 隔离观察 20 d。接毒对照雏鸭死亡率 100% (20/20), 卵黄抗体预防对照组保护率 100% (0/20), 同居感染实验组雏鸭死亡率 80% (16/20)。

#### 4.6 卵黄抗体对出现 DVH 临床症状雏鸭的治疗效果

雏鸭 DVH 比较特征的临床症状是出现倒地两脚痉挛踢动呈划游状态, 选择 100 只 1 日龄雏鸭, 每只接种 1 万倍 LD<sub>50</sub> 的 DHV 强毒, 选出现特征临床症状的雏鸭 60 只, 用中和抗体效价分别为 28.5、29.5 和 210.5 的卵黄抗体各治疗 20 只, 观察治疗效果。效价为 28.5 的卵黄抗体治疗组雏鸭全部死亡, 效价为 29.5 的治疗组治愈率为 20% (4/20), 效价为 210.5 的治疗组治愈率为 40% (8/20)。

### 5 小结与讨论

5.1 鸭病毒性肝炎主要发生于雏鸭, 且 10 日龄内的病鸭死亡率很高。据此特点, 防治本病的关键应是尽早使雏鸭在易感期内获得保护力。对种鸭进行免疫接种, 通过母源抗体使雏鸭获得被动保护是一种有效的方法。规模化养鸭场种鸭都使用了 DVH 鸡胚化弱毒疫苗或鸭瘟—鸭病毒性肝炎二联弱毒疫苗, 其子代雏鸭由于获得母源抗体的保护可以不发生 VHD。但是, 我省某些鸭场, 从南方外购种鸭时, 对种鸭免疫状况不了解, 常常导致 DVH 免疫失败, 另外很多农村散养的鸭没有使用疫苗进行免疫, 也常常发生 DVH。所以使用抗 DVH 抗体治疗发病鸭非常重要。对雏鸭进行被动免疫, 不但可使其在易感期内获得足够的保护力, 而且还有一定治疗

作用。

5.2 研究表明抗 DVH 卵黄抗体用于 DVH 的治疗效果与卵黄抗体的效价、治疗时间的早晚及免疫途径有密切关系<sup>[4]</sup>。这与血清抗体治疗效果基本一致。但卵黄抗体中和抗体效价应达 28.5 以上, 并且在感染 DHV 24 h 以内对雏鸭进行肌肉注射时, 免疫效果为最适宜。

5.3 用鸭高免血清或康复血清对雏鸭进行被动免疫效果虽好, 但血清制造手续繁杂, 产量低、成本高, 不易满足生产需要。用鸭病毒性肝炎油乳剂双相活苗, 对鸡进行多次免疫, 可获得安全、高效的卵黄抗体<sup>[5]</sup>。鸡易于规模化饲养, 产蛋率高, 是大批量生产卵黄抗体的理想动物。此外, 应用异源动物鸡制备卵黄抗体, 不但减少了同源疫病传染的危险, 也为研制其他疫病的异源高免卵黄抗体提供了有益的经验。

5.4 根据王永坤等编著的《水禽诊断与防治手册》中的文章《鸭病毒性肝炎》概述中提到: 病毒在 0.1% 福尔马林中能够存活 8 h, 目前还没事实证明病毒能够通过鸭蛋传递, 所以, 用不完全灭活的肝组织毒液给鸡多次攻毒免疫接种, 利用它们所产的蛋, 制备的蛋黄抗体, 经安全试验和临床应用, 证明是安全的。

#### 参考文献:

- [1] 苏敬良, 黄瑜, 赵继勋, 等. 新型鸭肝炎病毒的分离及初步鉴定 [A]. 中国家畜传染病分会. 中国家畜传染病分会: 第五届代表大会暨第九次学术研讨会论文集 [C]. 2000 864-865.
- [2] 程安春, 江铭书, 陈孝跃, 等. 发现于我国的 III 型雏鸭肝炎病毒的分离、鉴定与其特性研究 [A]. 中国禽病分会 2002 年禽病分会第 11 次学术研讨会论文集 [C]. 2002, 619.
- [3] 徐宜为. 最新禽病与防治 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1993.
- [4] 殷震, 刘景华. 动物病毒学 [M]. 北京: 科学出版社, 1985.
- [5] 程安春. 新鸭病诊断和防治 [M]. 成都: 四川大学出版社, 1995.

## 蛋鸡补钙四法

**找准补钙钙源** 钙源饲料以海产粗贝壳粉碎而成, 不含细沙, 含钙量一般在 35% ~ 37%, 是蛋鸡的优质钙源饲料。

**确定补钙时间** 连续产蛋母鸡多在上午产蛋, 产蛋后半小时, 下一个蛋黄从卵巢排入输卵管内。所以连续产蛋母鸡上午不需要补钙, 到 14:00 后, 随着蛋壳沉积速度的增加, 鸡需钙量也随之增加。因此, 为了使蛋鸡多产蛋, 产好蛋, 在每天 14:00 ~ 18:00 给蛋鸡补饲钙质饲料效果最佳。

**明确补钙数量** 蛋鸡生产需要补钙, 但也不是越多越好。一般蛋鸡每产一枚蛋需要钙质 4.4g, 日粮中含钙量在 3% ~ 3.5% 即可满足蛋鸡的生产需要。如果日粮中含钙量超过 4%, 即会出现不良症状: 一方面会使饲料的适口性变差, 鸡群采食量减少; 另一方面会引起尿酸盐在蛋鸡体内蓄积, 导致消化不良而引起拉稀, 严重的还会引起通风症状。

**掌握补钙方法** 钙源饲料可单独放置, 任鸡自由采食, 也可混于饲料中饲喂。